

NASKAH PUBLIKASI

**UJI EFEK ANTIINFLAMASI KOMBINASI ASTAXANTHIN DAN
EKSTRAK RIMPANG KUNYIT (*Curcuma domestica* Val.)
TERHADAP HITUNG JENIS NEUTROFIL PADA
TIKUS PUTIH GALUR WISTAR**



**JEFRIANTO
NIM I1011131078**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TANJUNGPURA
2016**

**HALAMAN PENGESAHAN
NASKAH PUBLIKASI**

**UJI EFEK ANTIINFLAMASI KOMBINASI ASTAXANTHIN DAN EKSTRAK
RIMPANG KUNYIT (*Curcuma domestica* Val.) TERHADAP HITUNG
JENIS NEUTROFIL PADA TIKUS PUTIH GALUR WISTAR**

Tanggung Jawab Yuridis Material Pada

Jefrianto

NIM 11011131078

Disetujui Oleh

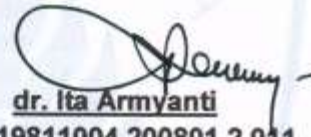
Pembimbing I



dr. Muhammad In'am Ilmiawan, M.Biomed

NIP. 19791018 200604 1 002

Pembimbing II



dr. Ita Armyanti
NIP. 19811004 200801 2 011

Penguji I



dr. Joni Tampe Parinding, Sp. PK

NIP. 19640218 199703 1 005

Penguji II



dr. Sari Rahmayanti
NIP. 19870508 201404 2 001

**Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Tanjungpura**



dr. Arif Wicaksono, M. Biomed

NIP. 19831030 200812 1 002

UJI EFEK ANTIINFLAMASI KOMBINASI ASTAXANTHIN DAN EKSTRAK RIMPANG KUNYIT (*Curcuma domestica* Val.) TERHADAP HITUNG JENIS NEUTROFIL PADA TIKUS PUTIH GALUR WISTAR

Jefrianto¹, M. In'am Ilmiawan², Ita Armyanti³

Abstrak

Latar Belakang: Respon inflamasi yang jika terjadi secara berlebihan di dalam tubuh dapat menimbulkan berbagai penyakit. Astaxanthin dan ekstrak rimpang kunyit diketahui memiliki efek antiinflamasi. Kombinasi astaxanthin dan ekstrak rimpang kunyit diharapkan dapat bersinergis meningkatkan efek antiinflamasi. **Tujuan:** Untuk mengetahui efek antiinflamasi kombinasi astaxanthin dan ekstrak rimpang kunyit terhadap hitung jenis neutrofil pada tikus putih galur wistar yang diinduksi inflamasi dengan karagenin 1% dan senyawa metabolit sekunder ekstrak rimpang kunyit. **Metode:** Desain penelitian ini merupakan *true eksperimental* dengan *complete randomized design*. Hewan uji yang digunakan sebanyak 30 ekor terbagi dalam 5 kelompok. Kelompok 1 diberikan astaxanthin 0,108 mg/hari dan ekstrak rimpang kunyit 1000 mg/kgBB; Kelompok 2 diberikan astaxanthin 0,216 mg/hari dan ekstrak rimpang kunyit 1000 mg/kgBB; Kelompok 3 diberikan astaxanthin 0,432 mg/hari dan ekstrak rimpang kunyit 1000 mg/kgBB; Kelompok 4 (kontrol negatif) diberikan CMC 0,5 mg/kgBB; Kelompok 5 (kontrol positif) diberikan celecoxib 18 mg/kgBB;. Analisa data menggunakan SPSS versi 23.0. dengan *One Way ANOVA* dilanjutkan *Post Hoc Test LSD*. **Hasil:** Kombinasi astaxanthin dan ekstrak rimpang kunyit pada kelompok 1 menurunkan jumlah neutrofil yang berbeda bermakna ($p=0,01$) dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif pada jam ke-12. Kelompok 2 berbeda bermakna pada jam ke-8 ($p=0,023$) dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Metabolit sekunder ekstrak rimpang kunyit berupa fenol, flavonoid dan saponin. **Kesimpulan:** Kombinasi astaxanthin dan ekstrak rimpang kunyit dapat berperan sebagai agen antiinflamasi dengan penurunan rerata hitung jenis neutrofil. Dosis efektif terdapat pada kelompok 1 yang menggunakan astaxanthin 0,108 mg/hari dan ekstrak rimpang kunyit 1000 mg/kgBB.

Kata Kunci: Inflamasi, Astaxanthin, Ekstrak rimpang kunyit, Neutrofil

-
- 1) Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura Pontianak
 - 2) Departemen Patologi Anatomi, Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura Pontianak
 - 3) Departemen Farmakologi, Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura Pontianak

THE TEST ON ANTIINFLAMMATORY EFFECT OF ASTAXANTHIN COMBINED WITH TUMERIC RHIZOMES EXTRACT (*Curcuma domestica* Val.) TOWARD THE DIFFERENTIAL COUNTING OF NEUTROPHILS ON WISTAR RAT

Jefrianto¹, M. In'am Ilmiawan², Ita Armyanti³

Abstract

Background: Inflammatory responses in the body which occur excessively can cause various diseases. Astaxanthin and turmeric rhizomes extract is known have antiinflammatory effect. The combination of astaxanthin and turmeric rhizomes extract is expected to synergistic enhance the antinflammatory effects. **Objective:** To determine the anti-inflammatory effect of combination of astaxanthin turmeric rhizomes extract toward the differential counting of neutrophils on wistar strain white rats which induced by inflammation with carrageenan 1% and secondary metabolites of turmeric rhizomes extract. **Methods:** This is a true experimental study with complete randomized design. Animal testing as much as 30 individuals divided into five groups. The group 1 was given a astaxanthin 0.108 mg/day and 1000 mg/kgBw of turmeric rhizomes extract; group 2 were given astaxanthin 0.216 mg/day and 1000 mg/kgBw of turmeric rhizomes extract; group 3 were given astaxanthin 0.432 mg/day and 1000 mg/kgBw of turmeric rhizomes extract; Group 4 (negative control) CMC given 0.5%; Group 5 (positive control) given celecoxib 18 mg/kgBw. Data were analyzed using SPSS version 23.0. One Way ANOVA followed by Post Hoc Test LSD. **Results:** The combination of astaxanthin and extract turmeric in group 1 decrease the number of neutrophils were significantly different ($p = 0.01$) compared to the negative control group at the 12th hour. Group 2 differed significantly on the 8th hour ($p = 0.023$) compared to the negative control group. Secondary metabolites of turmeric rhizomes extract is fenol, flavonoid and saponin. **Conclusion:** The combination of astaxanthin and turmeric rhizomes extract can act as an anti-inflammatory agent with a mean decrease in neutrophil differential counts. The effective dose contained in group 1 were using astaxanthin 0.108 mg/day and 1000 mg/kgBw of turmeric rhizomes extract.

Keywords: Inflammation, Astaxanthin, Tumeric rhizomes extract, Neutrophils.

-
- 1) Medical Science Program, Faculty of Medicine, Tanjungpura University Pontianak
 - 2) Department of Pathology and Anatomical Science, Medical Science Program, Faculty of Medicine, Tanjungpura University Pontianak
 - 3) Department of Pharmacology, Medical Science Program, Faculty of Medicine, Tanjungpura University Pontianak

PENDAHULUAN

Inflamasi merupakan respon protektif jaringan tubuh yang terjadi akibat adanya cedera atau kerusakan jaringan yang berfungsi menghancurkan, mengurangi, atau mengurung agen yang menyebabkan terjadinya cedera maupun jaringan yang cedera itu.¹ Saat terjadi inflamasi akan timbul tanda-tanda berupa *rubor* (kemerahan), *calor* (panas), *dolor* (rasa sakit), *tumor* (pembengkakan) dan *functio laesa* (gangguan fungsi) serta peningkatan jumlah neutrofil pada bagian tubuh yang mengalami inflamasi. inflamasi merupakan salah proses yang mendasari berbagai penyakit akibat responnya yang berlebihan, diantaranya Osteo Arthritis (OA) dan asma.²

Obat antiinflamasi yang paling banyak digunakan untuk mengatasi kasus terkait inflamasi adalah obat antiinflamasi non-steroid (OAINS). Penggunaan obat OAINS dihindari pada pasien dengan riwayat gastritis atau ulkus peptikum dan hemofilia. Penggunaan OAINS yang menghambat siklooksigenase (COX) tidak bisa digunakan dalam jangka waktu lama karena dapat menyebabkan terjadinya ulkus peptikum, nefropati analgetik, menghambat fungsi platelet, menghambat induksi persalinan serta meningkatkan insiden hipertensi.^{3,4}

Penelitian yang dilakukan oleh Lee *et al* pada tahun 2003 didapatkan Astaxanthin selain sebagai antioksidan juga memiliki efek antiinflamasi dengan cara menghambat produksi mediator inflamasi melalui memblok jalur aktivasi *Nuclear Factor- κ B* (NF- κ B). Penelitian lain juga dilakukan oleh Bangsawan pada tahun 2012 didapatkan hasil bahwa astaxanthin memiliki efek antiinflamasi melalui jalur NF- κ B yang ditandai dengan penurunan kadar neutrofil dan limfosit.^{5,6}

Hasil penelitian Erlian Rustam tahun 2007 menunjukkan ekstrak rimpang kunyit memiliki efek antiinflamasi yang diukur melalui volume edema kaki tikus.⁷ Senyawa aktif yang terdapat pada kunyit berupa minyak atsiri yang terdiri dari *alpha beta tumeron*, *aril-tumeron*, *artumeron*, *alpha dan beta atlanton*, *kurkumol*, *zingiberance*. Kunyit juga mengandung senyawa kurkuminoid yang terdiri dari kurkumin (*diferuloylmethane*), *demetoxycurcumin*, dan *bisdemetoxycurcumin*. Kurkumin berperan sebagai antiinflamsi dengan menghambat aktivitas enzim COX-2, lipooksigenase, dan *Inducible Nitric Oxid Synthase* (iNOS).⁸

Penelitian-penelitian yang telah menyatakan efek astaxanthin dan ekstrak rimpang kunyit (*Curcuma domestica* Val.) sebagai efek antiinflamasi mendorong peneliti untuk mengetahui efek antiinflamasi yang menggunakan kombinasi astaxanthin dan ekstrak rimpang kunyit (*Curcuma domestica* Val.) sebagai obat antiinflamasi. Penelitian ini menggunakan dosis astaxanthin bervariasi dan dosis ekstrak rimpang kunyit (*Curcuma domestica* Val.) yang tetap untuk melihat apakah meningkatkan efek antiinflamasi atau malah menurunkan efek anti inflamasi.

METODOLOGI

Bahan

1. Instrumen yang digunakan adalah:
Instrumen yang digunakan pada penelitian ini adalah Kandang tikus, timbangan untuk menimbang berat badan tikus, timbangan listrik (*Denver Instrument Company AA-160*) untuk menimbang bahan uji, sonde lambung, spuit *disposable* 1 ml dan 5 ml, sarung tangan kulit, gelas ukur, mortir dan penggerus, spuit injeksi untuk menyuntikkan karagenin ke telapak kaki tikus, stopwatch untuk mengukur waktu pengamatan, kaca objek dan kaca penutup, mikroskop cahaya dan kamera.
2. Bahan yang digunakan adalah:
Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah bubuk astaxanthin dengan mutu farmasetik dengan *Certificate of analysis* dari PT Futamed, serbuk simplisia ekstrak rimpang kunyit (*Curcuma domestica* Val.), celecoxib tablet, aquadest, pakan pellet hewan, alkohol absolut, karagenin, NaCl, CMC, metil alkohol, larutan giemsa, buffer dengan pH 6,4, FeCl 1 dan 5% 10, pereaksi Meyer, serbuk Mg, HCl, H₂SO₄, CH₃COOH glasial, kloroform.

Hewan Uji

Tikus yang digunakan dalam penelitian adalah tikus putih (*Rattus novergicus*) jantan galur wistar. Sampel tikus yang digunakan sebanyak 30 ekor dengan umur 8-12 minggu dengan berat badan 180-200 gram. Sampel di aklimatisasi dengan lingkungan laboratorium selama 7 hari dan dibagi secara acak menjadi 5 kelompok. Pemberian makanan adalah pakan standar dan minum *ad libitum*.

Prosedur Penelitian

Ekstrak rimpang kunyit yang digunakan berasal dari simplisia kering yang bahan bakunya diperoleh dari Jl. 28 Oktober Kecamatan Pontianak Utara, Kalimantan Barat. Simplisia diekstraksi melalui metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Ekstrak yang diperoleh kemudian dilakukan uji skrining fitokimia untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekundernya. Perlakuan yang diberikan pada penelitian ini adalah pemberian astaxanthin dengan dosis bertingkat yaitu: 0,108 mg/hari, 0,216 mg/hari, 0,432 mg/hari yang masing-masing dikombinasikan dengan vitamin A dalam dosis tetap yaitu 1000 mg/kgBB. Pemberian obat (kombinasi astaxanthin dan ekstrak rimpang kunyit (*Curcuma domestica* Val.)) dilakukan secara peroral dengan menggunakan sonde lambung. Obat hanya diberikan 1 kali selama penelitian. Karagenin disuntikkan pada subplantar hewan coba setelah 1 jam pemberian obat peroral. Setelah itu, dilakukan pengambilan darah melalui bagian ujung ekor tikus pada jam ke-0, 4, 8 dan 12 setelah injeksi karagenin. Sampel darah yang diambil

langsung dibuat sediaan apusan darah tepi dan diwarnai dengan pewarnaan giemsa. Sediaan apus darah tepi yang telah dibuat diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 100x untuk melihat hitung jenis neutrofil dan limfosit per 100 sel. Data yang diperoleh dianalisis secara statistik menggunakan *shapiro wilk*, *levene test*, *One way anova*, *kruskall-wallis*, LSD dan *mann-whitney*.

HASIL

Ekstrak rimpang kunyit yang telah diperoleh, dilakukan uji skrining fitokimia untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder didalamnya. Hasil uji skrining fitokimia dapat dilihat pada tabel 1.1.

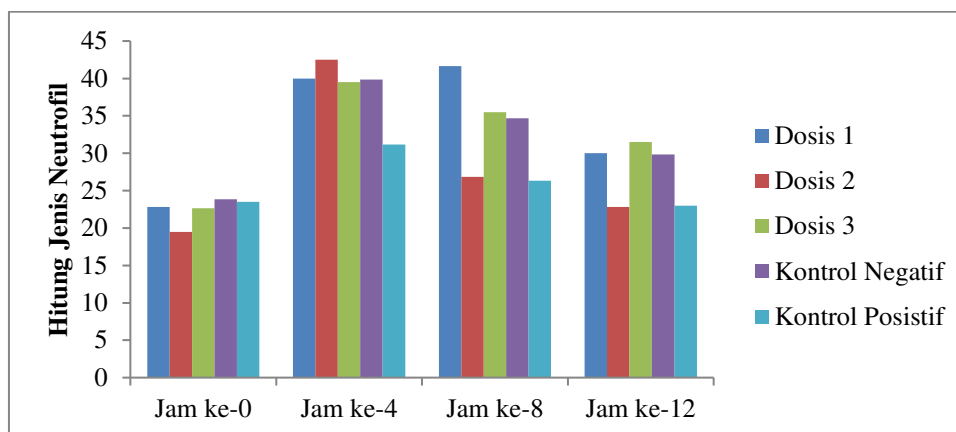
Tabel 1.1. Hasil Skrining Fitokimia

No.	Skrining Metabolit	Hasil
1.	Alkaloid	(-)
2.	Fenol	(+)
3.	Flavonoid	(+)
4.	Steroid	(-)
5.	Terpenoid	(-)
6.	Tanin	(-)
7.	Saponin	(+)

Keterangan: (+) : Positif
(-) : Negatif

Perlakuan pada penelitian ini adalah pemberian kombinasi Astaxanthin dalam dosis bervariasi (0,108 mg/hari, 0,216 mg/hari dan 0,432 mg/hari) dan ekstrak rimpang kunyit (*Curcuma domestica* Val.) dalam dosis tetap yaitu 1000 mg/kgBB. Satu jam kemudian disuntikan karagenin pada subplantar kaki tikus, setelah itu dilakukan pengambilan sampel darah melalui ekor tikus sebanyak 1 tetes yang diletakkan di kaca objek untuk dibuat apusan darah tepi kemudian diwarnai dengan pewarnaan giemsa. Darah tikus diambil setiap 4 jam sekali yaitu jam ke 0,4,8,12. Apusan darah tepi yang telah diwarnai kemudian diamati menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 100x untuk menghitung jenis neutrofil. Proses perhitungan dilakukan pada sebanyak 100 sel dengan metode zigzag.

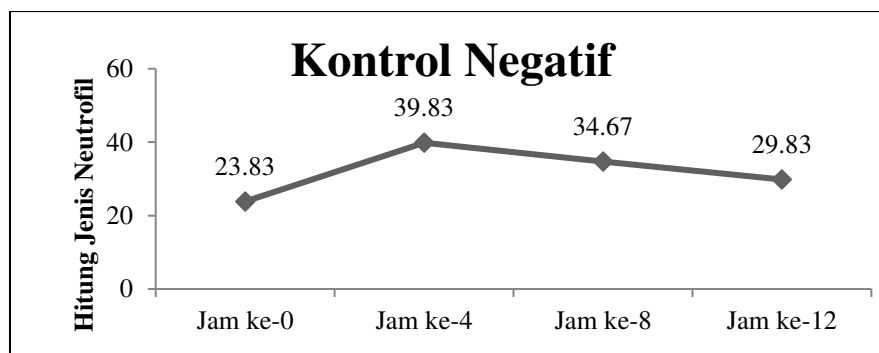
Grafik hasil perbandingan perhitungan rerata hitung jenis neutrofil semua kelompok perlakuan dapat dilihat pada gambar 1.1.



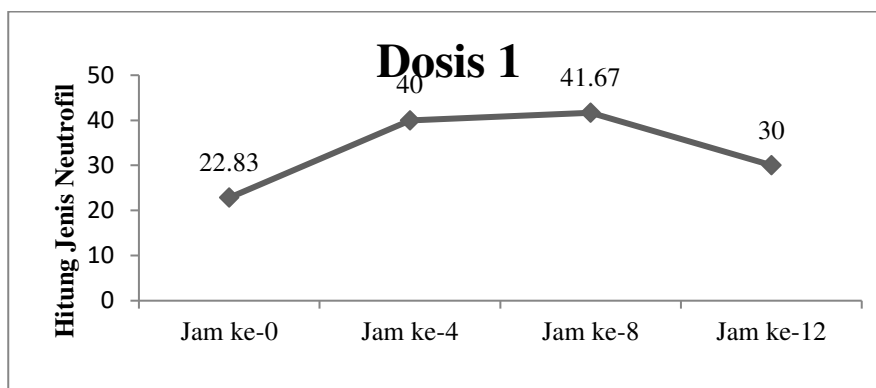
Gambar 1.1. Perbandingan hasil perhitungan rerata hitung jenis neutrofil untuk semua kelompok (Waktu)

Hasil perhitungan rerata hitung jenis neutrofil pada gambar 1.1 di atas menunjukkan terjadi lonjakan peningkatan jumlah neutrofil pada jam ke 4 dan berangsur-angsur turun pada jam 8 hingga jam ke 12.

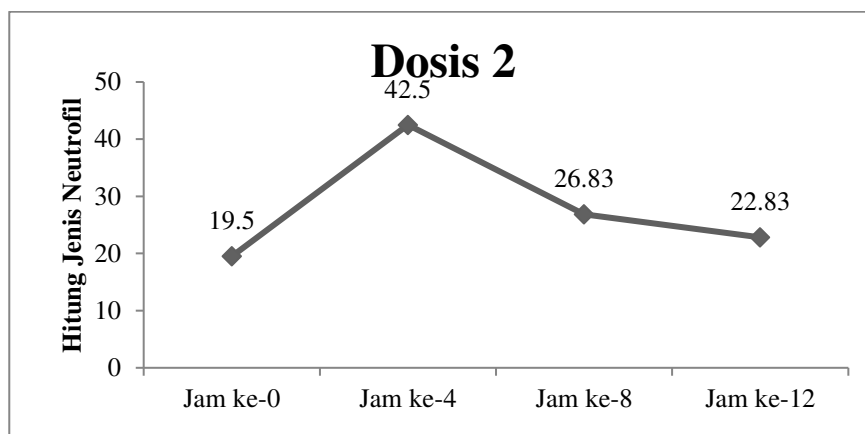
Setiap kelompok perlakuan dilakukan analisis statistik. Hasil uji analisis statistik dari setiap kelompok perlakuan dapat dilihat pada gambar grafik 1.3 hingga 1.7..



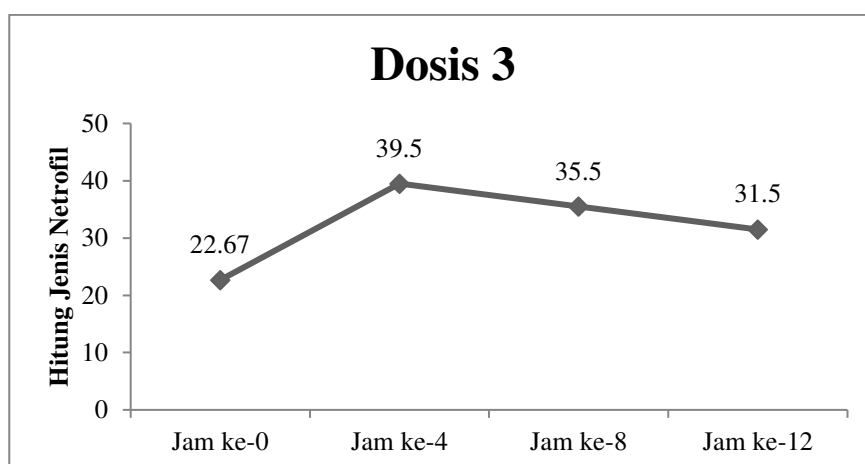
Gambar 1.3. Rerata Hitung Jenis Neutrofil Kontrol Negatif



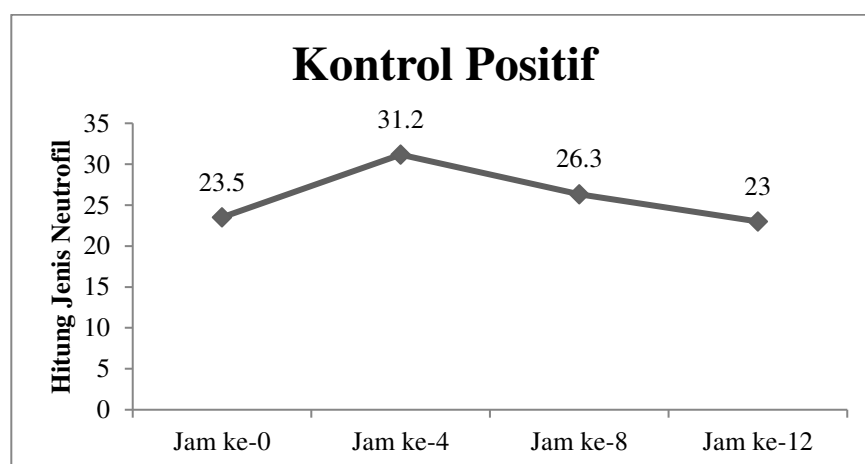
Gambar 1.4. Rerata Hitung Jenis Neutrofil Dosis 1



Gambar 1.5. Rerata Hitung Jenis Neutrofil Dosis 2



Gambar 1.6. Rerata Hitung Jenis Neutrofil Dosis 3

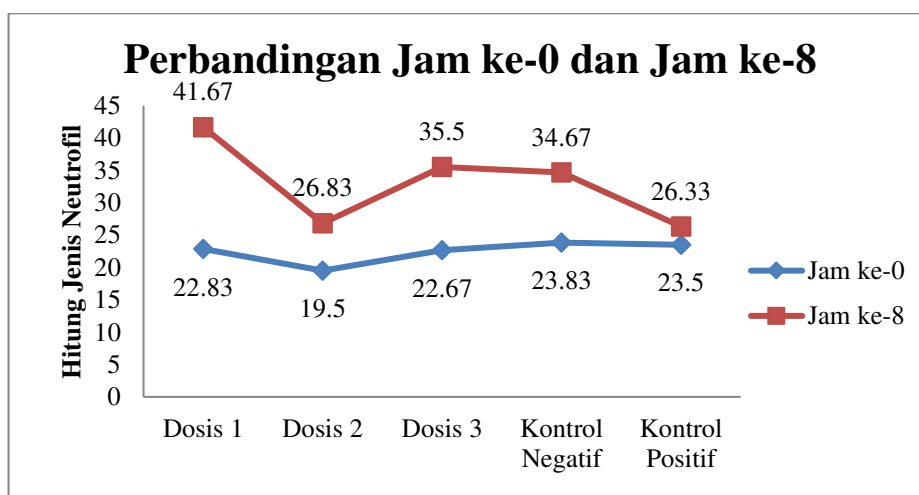


Gambar 1.7. Rerata Hitung Jenis Neutrofil Kontrol Positif

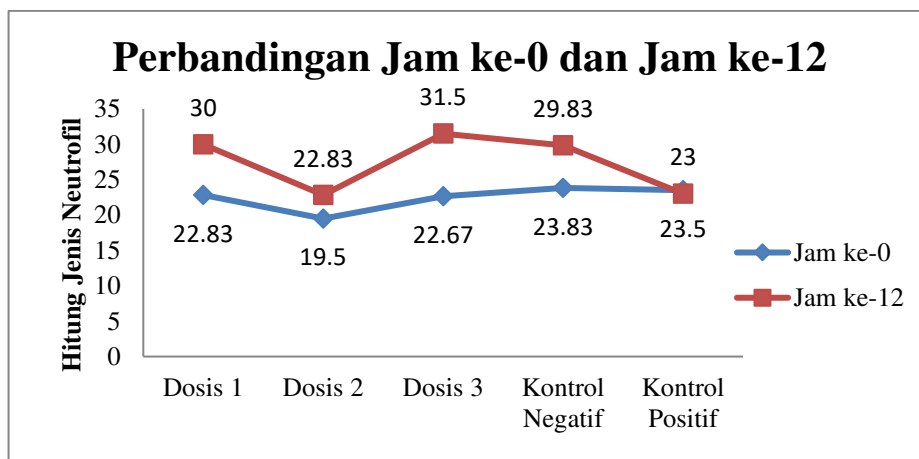
Hasil uji statistik pada setiap kelompok diatas menunjukkan bahwa inflamasi terjadi pada jam ke 4 yang memiliki perbedaan bermakna LSD ($p < 0,05$) dari jam ke 0 dan berangsur-angsur turun

pada jam 8 hingga jam ke 12. Efek obat yang digunakan mulai menunjukkan pengaruh penekanan terhadap hasil perhitungan rerata hitung jenis neutrofil mulai tampak pada jam ke 8 dan jam ke 12.

Perbandingan efek untuk setiap kelompok pada jam ke 8 dan 12 terhadap jam ke 0 sebagai *baseline* dapat dilihat pada gambar grafik 1.8 dan 1.9.



Gambar 1.8. Perbandingan Rerata Hitung Jenis Neutrofil Jam ke-0 dan Jam ke-8



Gambar 1.9. Perbandingan Rerata Hitung Jenis Neutrofil Jam ke-0 dan Jam ke-12

Hasil uji statistik untuk jam ke 8 menunjukkan masih terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok dosis 1 dan 3 pada jam ke 8 terhadap jam ke 0 LSD ($p < 0,05$). Sedangkan dosis 2 dan kontrol positif telah menunjukkan efek penekanan terhadap inflamasi yang telah terjadi LSD ($p > 0,05$) dibandingkan dengan jam

ke 0. Hasil pada jam ke 12 didapatkan uji statistik ($p > 0,05$) pada kelompok dosis 1, 2 dan kontrol positif yang menunjukkan telah terdapat efek antiinflamasi.

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil yang didapatkan pada jam ke-0 dan jam ke-4 pada kontrol negatif menunjukkan bahwa pada jam ke-4 terjadi peningkatan rerata hitung jenis neutrofil secara signifikan ini menandakan bahwa telah terjadi inflamasi yang diinduksi karagenin 0,1% pada subplantar kaki tikus. Kontrol negatif Pada jam ke-8 inflamasi berangsur turun. Adanya peningkatan hitung jenis neutrofil pada kontrol negatif dikarenakan telah terjadi inflamasi pada tikus. Terjadi respon inflamasi akut. Respon inflamasi yang dipicu karagenin berupa timbulnya edema sebagaimana yang dilaporkan oleh Hassanein, Nahed M.A *et al* pada tahun 2008 dan Oliveira C *et al* pada tahun 2010. Mediator yang berperan seperti TNF- α dan IL-1 β yang nantinya akan mengaktivasi neutrofil. Edema yang terjadi akibat terlepasnya mediator inflamasi seperti: histamin, serotonin, bradikinin, dan prostaglandin. TNF- α dan IL-1 β yang berperan dalam menginduksi agregasi dan aktivasi neutrofil, produksi asam arakidonat dan NO. Selain itu TNF- α dan IL-1 memiliki hubungan timbal balik dengan NF- κ B sehingga akan saling mengaktivasi.⁹⁻¹³

Celecoxib mampu menekan inflamasi dilihat pada jam ke-8 dan jam ke-12 terjadi penurunan rerata hitung jenis neutrofil dan memiliki perbedaan bermakna jika dibandingkan dengan kontrol negatif. Obat ini memiliki efek antiinflamasi dikarenakan mampu menghambat biosintesis prostaglandin dengan mekanisme utama melalui penghambatan selektif COX-2.^{3,14}

Astaxanthin memiliki peran antiinflamasi dengan cara menghambat ekspresi dan pembentukan mediator sitokin pro-inflamasi tersebut pada sel lipopolisakarida dan makrofag primer. Astaxanthin menekan tingkat serum NO, prostaglandin E₂, TNF- α , dan IL-1 pada lipopolisakarida tikus. Astaxanthin menghambat aktivasi NF- κ B serta aktivitas promotor NO sintase pada sel lipopolisakarida yang dirangsang. NF- κ B memiliki peranan dalam sistem imun, seperti mengaktifkan gen pro-inflamasi untuk *encoding* NO sintase, TNF- α , dan beberapa IL. Penelitian lain oleh Speranza didapatkan bahwa astaxanthin menghambat produksi ROS yang diinduksi oleh faktor transkripsi TNF- κ B, yang kemudian menghambat produksi sitokin inflamasi. Penelitian yang dilakukan oleh Bangsawan pada tahun 2012 dimana tikus diinduksi inflamasi dengan karagenin didapatkan hasil bahwa astaxanthin menghambat inflamasi dengan menurunkan jumlah neutrofil.^{5,6,15}

Aktivasi NF- κ B merangsang ekspresi enzim yang produknya berkontribusi pada patogenesis dari proses inflamasi, termasuk menginduksi *Inducible Nitric Oxide Synthase* (iNOS) yang

berhubungan dengan nitrit oksida (NO), dan menginduksi COX-2. Peningkatan agregasi dan aktivasi neutrofil di sirkulasi dapat diinduksi oleh sitokin proinflamasi berupa TNF- α dan IL-1.^{2,16} Sitokin proinflamasi seperti IL-1 dan TNF dapat meningkatkan produksi sel darah putih di sum-sum tulang yang menyebabkan peningkatan neutrofil yang relatif imatur dalam darah (*neutrofil shift to the left*).^{2, 9, 16-18}

Efek antiinflamasi ekstrak rimpang kunyit terutama melalui senyawa kurkumin yang terkandung didalamnya. Hasil penelitian menunjukkan kurkumin merupakan molekul yang sangat banyak memiliki efek (pleiotropik) yang mampu berinteraksi dengan berbagai molekul target yang terlibat dalam respon inflamasi. Kurkumin memodulasi respon inflamasi dengan menurunkan pengaturan aktivitas enzim COX-2, lipoksigenase, dan INOS; menghambat produksi sitokin inflamasi seperti TNF- α , IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, dan IL-12, *monosit chemoattractant protein* (MCP), migrasi protein penghambatan; dan menurunkan pembentukan mitogen aktif serta Janus kinase.^{8,19}

Penghambatan kerja enzim COX-2 dan INOS terjadi melalui penekanan terhadap aktivasi Nf- κ B.²⁰ Kurkumin juga menghalangi fosforilasi IKK. Penekanan aktivasi Nf- κ B kemudian menurunkan efek dari enzim COX-2 dan INOS, menghambat proses inflamasi dan tumorigenesis.^{20,21} Hasil penelitian pada hewan yang diinduksi inflamasi menunjukkan kurkumin juga menghambat metabolisme asam arakidonat dan peradangan pada epidermis kulit tikus melalui penurunan kerja dari jalur siklooksigenase dan lipoksigenase.²²

Penghambatan kurkumin terhadap sitokin inflamasi terjadi melalui sejumlah mekanisme. Hasil studi in vitro menunjukkan bahwa kurkumin mengatur aktivasi faktor transkripsi tertentu seperti mengaktifkan protein-1 (AP-1) dan Nf- κ B dalam perangsangan aktivitas monosit dan makrofag alveolar, sehingga menghalangi ekspresi gen sitokin. Penurunan regulasi protein sinyal antarsel, seperti protein kinase C merupakan cara lain kurkumin mampu menghambat produksi sitokin.⁸

Kombinasi astaxanthin dan ekstrak rimpang kunyit dapat berperan sebagai agen antiinflamasi dengan penurunan rerata hitung jenis neutrofil. Dosis efektif terdapat pada kelompok 1 yang menggunakan astaxanthin 0,108 mg/hari dan ekstrak rimpang kunyit 1000 mg/kgBB.

DAFTAR PUSTAKA

1. Dorland WAN. Kamus saku kedokteran Dorland. Edisi ke-28. Jakarta: EGC; 2012. Hal. 566.
2. Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. Buku ajar patologi. Edisi ke-7 . Jakarta: EGC; 2013. Hal. 35-57.

3. Goodman G. The Pharmacological Basis of Therapeutics; Analgesic-Antipyretic Agents. Edisi ke-12. New York/Toronto: Mc Graw-Hill; 2008. Hal. 959-1000.
4. Katzung BG. Farmakologi dasar dan klinik. Edisi ke-10. Jakarta: EGC; 2010. Hal. 589-92.
5. Lee SJ, Bai SK, Lee KS, Namkoong S, Na HS, et al. Astaxanthin inhibits nitric oxide production and inflammatory gene expression by suppressing I kappa B kinase-dependent NF-kappa B activation. *Moll Cells*. 2003;16(1):97–105.
6. Bangsawan PI. Efek Antiinflamasi Astaxanthin Terhadap Volume Edema dan Gambaran Ekspresi COX-2 dengan Penggunaan Parameter Limfosit dan Neutrofil pada Tikus Putih Dewasa Galur Wistar. [Palembang. Universitas Sriwijaya]. [Tesis]; 2012.
7. Rustam E, Indah A, Yanwirasti. Efek antiinflamasi ekstrak etanol kunyit (*Curcuma domestica* Val.) pada tikus putih jantan galur wistar [Skripsi]. [Padang]: Andalas; 2007.
8. Goel A, Kunnumakkara AB, Aggarwal BB. Curcumin as “Curecumin”: from kitchen to clinic. *Biochem Pharmacol*. 2008;75(4):787–809.
9. Yamamoto, Gaynor. Therapeutic potencial of inhibition of the NF-kB pathway in the treatment of inflammation and cancer. *J Clin Invest*. 2001;107(2):135–42.
10. Hassanein, Nahed MA. Roles of interleukin-1 β (IL-1 β) and nitric oxide (NO) in the antiinflammatory dynamics of acetylsalicylic acid against Carrageenan induced paw oedema in mice. *Global Journal of Pharmacology* 2. 2008.(1):11-9.
11. Oliveira C. Effect of plant peutrofil elastase inhibitor on leucocyte migration, adhesion dan cytokine release in inflammatory conditions. *British Journal Pharmacology*. 2010 161. 899-910.
12. Hoesel B, Schmid J. A. The complexity of NF-k β signaling in inflammation and cancer. *Molecular Cancer*. 12:80. 2013 Hal.1-15.
13. Necas J, Bartosikova L. Carrageenan: A review. *J Vet Med*. 2013;58(4):187–205.
14. Gunawan dan Sulistia.. Farmakologi dan Terapi. Edisi ke-5. Jakarta: FKUI. 2011. Hal. 231-33. 779-82.
15. Speranza L, Pesce M, Patruno A, Franceschelli S, de Luttis MA, Grilli A et al. Astaxanthin treatment reduced oxidative Induced pro-Inflammatory cytokines secret in U937: SHP-1 as a novel biological target. *Mar Drugs*. 2012;10(4):890–9.
16. Underwood JCE. General and systematic pathology. Edisi ke-4. New York: Elseviers; 2007. Hal. 201-19.
17. Krisztina F, Szabina F, Attila M. Neutrophil cell surface receptors and their intrasellular signal transduction pathways. 2013. 17(3): 638-50.

18. Messina S, Vita GL, Aguenouz M, Sframeli M, Romeo S, Rodolico C, et al. Activation of Nf- κ B pathway in Duchenne muscular dystrophy: relation to age. *Acta Myol.* 2011;30(1):16–23.
19. Abe Y, Hashimoto S, Horie T. Curcumin inhibition of inflammatory cytokine production by human peripheral blood monocytes and alveolar macrophages. *Pharmacol Res.* 2009;39(1):41–7.
20. Surh YJ, Chun KS, Cha HH, Han SS, Keum YS, Park KK et al. Molecular mechanisms underlying chemopreventive activities of anti-inflammatory phytochemical: down-regulation of COX-2 and iNOS through suppression of NF- κ B activation. *Mutat Res.* 2001;480-481:243–68.
21. Jobin C, Bradham CA, Russo MP, Juma B, Narula AS, Brenner DA et al. Curcumin blocks cytokine-mediated NF kappa B activation and proinflammatory gene expression by inhibiting inhibitory factor I-kappa B kinase activity. *J Immunol.* 2009;163(6):3474–83.
22. Huang MT, Lysz T, Feraro T. Inhibitory effect of curcumin on in vitro lipooxygenase and cyclooxygenase activities in mouse epidermis. *Cancer Res.* 2008;51:813–9.

SURAT KAJI ETIK PENELITIAN



**KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS TANJUNGPURA**

FAKULTAS KEDOKTERAN

Jalan Prof. Dr. H. Hadari Nawawi Pontianak 78124

Telp (0561) 765342, 583865, 732500 Fax (0561) 765342, 583865, 732500 Kotak Pos 1049

E-mail : kedokteran@untan.ac.id website : <http://www.kedokteran.untan.ac.id>

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK (ETHICAL – CLEARANCE)

No : 5213 /UN22.9/DT/2015

Divisi Kaji Etik Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura dalam upaya melindungi kesejahteraan hewan coba subyek penelitian kedokteran dan kesehatan, telah mengkaji dengan teliti protokol penelitian berjudul:

Ethical Clearance Division of the Faculty of Medicine University of Tanjungpura, with regards of the animal welfare in medical and health research, has carefully reviewed the proposal entitled:

Uji Efek Antiinflamasi Kombinasi Astaxanthin dan Ekstrak Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica* Val.) Terhadap Hitung Jenis Neutrofil pada Tikus Galur Wistar

Peneliti utama (*Principal Researcher*) : **Jefrianto**

Nama institusi (*Institution*) : **Program Studi Pendidikan Dokter
Fakultas Kedokteran Untan**

dan telah menyetujui protokol penelitian tersebut di atas.
and approved the mentioned proposal.

Pontianak, 20 November 2015
Ketua (*Chairman*),

dr. Heru Fajar Trianto, M.Biomed
NIP. 19841013 200912 1 005